

만성 사구체 신염 환자에서 안지오텐신 수용체 차단제 투여가 단백뇨와 요증 TGF- β 1에 미치는 효과

연세대학교 의과대학 내과학교실, 신장질환연구소

박형천 · 김법식 · 최훈영 · 강신욱 · 최규현 · 하성규 · 이호영 · 한대석

(요약)

배경: 사구체 신질환에서 TGF- β 1의 증가는 세포외기질의 축적을 증가시켜 사구체경화증과 간질의 섬유화를 유발하며 다양한 신질환의 진행을 촉진시킨다. 본 연구에서는 단백뇨가 동반된 비당뇨병성 만성 사구체 신염 환자에서 6개월간의 지속적인 안지오텐신 수용체 차단제 치료에 따른 단백뇨와 TGF- β 1 분비 억제 효과 및 요증 TGF- β 1의 임상적 의의를 관찰하고자 하였다.

방법: 일일 단백뇨가 1 gm 이상 동반된 비당뇨병성 만성 사구체 신염 환자들을 대상으로 losartan 50 mg과 100 mg을 각각 순차적으로 12주씩 투여하였다. 두 치료 기간 전후로 환자군의 임상적 지표와 혈청 및 요증 TGF- β 1 농도를 측정하였고, losartan 투여 24주 후의 요단백 배설 감소 정도에 따라 반응군(기저 단백뇨에 비해 24주 후 30% 이상 단백뇨가 감소)과 비반응군(기저 단백뇨에 비해 30% 미만 감소)으로 분류하여 양군의 임상적 특성을 비교하고, 요증 TGF- β 1을 포함한 임상적 지표와 losartan에 대한 요단백 감소 반응과의 연관성을 검정하였다.

결과: 총 42명의 환자가 치료를 완료하였고, 환자군 모두 치료 전후 혈액생화학적 지표 및 크레아티닌 청소율의 유의한 변화는 없었다. 연구 기간 중 환자군의 혈압이 대부분 목표 혈압 이하로 조절되었으며 요단백 배설 감소 정도에 따른 반응군(n=31)과 비반응군(n=11)의 혈압 하강 정도는 비슷하였다. 환자군의 치료 전 요증 TGF- β 1 농도는 정상 대조군에 비해 유의하게 높았고, 혈청 TGF- β 1 농도는 정상 대조군과 차이가 없었다. 반응군에서 50 mg과 100 mg의 losartan 치료는 단백뇨(46%와 64.1%)와 요증 TGF- β 1 분비(29.0%와 45.8%)를 각각 감소시켰으나($p<0.05$), 비반응군에서는 요증 TGF- β 1 분비가 초기 12주만 감소 효과가 관찰되었다. 한편 혈청 TGF- β 1 농도는 losartan 치료 전후에 유의한 변화가 관찰되지 않았다. 요증 TGF- β 1 농도와 단백뇨 배설 정도 및 크레아티닌 청소율 사이에는 유의한 상관관계가 없었다. 그러나 losartan 치료에 따른 요증 TGF- β 1 분비 감소 비율과 단백뇨 감소 비율 간에는 밀접한 양의 상관관계가 관찰되었다($r=0.301$, $p=0.052$). 비반응군은 반응군에 비해 고령이었고, 기저 요단백 배설 정도와 요증 TGF- β 1 농도가 유의하게 높았으며, losartan 치료에 따른 요증 TGF- β 1 분비 감소 비율이 현저히 작았다. 반응군과 비반응군의 로지스틱 분석상 기저 요증 TGF- β 1 농도가 낮을수록 losartan 치료에 따른 단백뇨 감소 반응이 좋았다.

결론: 단백뇨가 동반된 비당뇨병성 만성 사구체 신염 환자에서 요증 TGF- β 1 농도는 losartan 치료에 따라 유의하게 감소하였고, 단백뇨 감소 반응군과 비반응군 사이의 임상지표 분석상 기저 요증 TGF- β 1 농도는 안지오텐신 수용체 차단제 치료에 따른 요단백 감소 반응을 예전할 수 있는 지표임이 관찰되었다.

이 논문은 2002년도 연세대학교 학술연구비의 부분적인 지원에 의하여 이루어진 것임.

접수: 2003년 10월 13일, 승인: 2003년 12월 24일

책임저자: 한대석 서울시 서대문구 신촌동 134 연세대학교 의과대학 내과학교실

Tel : 02)361-5410, Fax : 02)393-6884, E-mail : dshan@yumc.yonsei.ac.kr

서 론

Transforming growth factor $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)은 25 kDa 크기의 단백으로 정상 발육, 상처 치유, 그리고 조직의 섬유화 등 광범위한 생물학적 활동에 관여하는 사이토카인이다¹⁾. 특히 TGF- $\beta 1$ 은 fibronectin, collagen 등의 세포외기질 (extracellular matrix) 구성 성분의 합성을 직접 자극하고, plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)과 같은 단백분해효소 억제제를 자극하여 세포외기질의 분해를 억제한다²⁾.

진행된 사구체 신질환은 원인 질환에 관계없이 세포외기질의 과도한 축적과 신조직의 섬유화를 특징으로 하며, 이러한 사구체경화증과 간질의 섬유화는 안지오텐신 II에 의해 조절되는 TGF- $\beta 1$ 의 과잉 발현이 관련되어 있다고 알려져 있다³⁾. 실제 당뇨병성 신증⁴⁾, 루푸스 신염⁵⁾, HIV 신증⁶⁾, IgA 신증⁷⁾ 등의 사구체 신염에서 TGF- $\beta 1$ 의 발현이 증가되었다는 증거들이 있으며, 특히 만성 사구체 신질환의 진행 과정에 TGF- $\beta 1$ 은 중추적인 역할을 담당하고 있다⁵⁾.

요즘 TGF- $\beta 1$ 분비는 신장내 TGF- $\beta 1$ 생성을 반영하며, 여러 신질환에서 정상 대조군에 비해 요즘 TGF- $\beta 1$ 분비가 현저하게 증가되어 있다^{8, 9)}. 신질환 동물모델과 항기저막 사구체 신염 동물모델에서 요즘 TGF- $\beta 1$ 분비는 사구체경화증과 신간질 섬유화 정도와 비례하였고^{8, 10)}, IgA 신증에서는 질환의 만성도를 반영한다는 연구 결과도 있었다^{11, 12)}.

신질환에서 안지오텐신 전환효소 (angiotensin converting enzyme, ACE) 억제제를 이용한 안지오텐신 II의 억제는 혈압 조절과 함께 단백뇨를 감소시켜 신질환의 진행을 완화시키는 신장 보호 작용이 있다¹³⁻¹⁵⁾. 안지오텐신 수용체 차단제 (angiotensin receptor blocker, ARB)도 ACE 억제제와 마찬가지로 설계된 모델과 시험관 배양 실험에서 신장 조직의 TGF- $\beta 1$ mRNA 발현과 TGF- $\beta 1$ 합성을 억제하였다^{10, 13, 15)}. 국내에서는 IgA 신증 환자에서 ARB를 3개월 이하 투약하여 단백뇨와 요즘 TGF- $\beta 1$ 분비가 감소하는 경향을 관찰한 연구들이 있다^{16, 17)}. 그러나 아직까지 국내에서 고혈압과 단백뇨가 동반된 비당뇨병성 만성 사구체 신염 환자에서 6개월간 ARB를 사용하여 통계적으로 유의한 단백뇨와 요즘 TGF- $\beta 1$ 분비 감소를 관찰한 연구는 없는 실정이다. 이에 본

연구는 1 gm 이상의 단백뇨가 동반된 비당뇨병성 만성 사구체 신염 환자에서 ARB인 losartan 치료에 따른 단백뇨와 혈청 및 요즘 TGF- $\beta 1$ 농도 변화와 요즘 TGF- $\beta 1$ 의 임상적 의의를 살펴보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

2000년부터 2002년까지 연세의료원에 내원하여 신조직 검사와 임상적으로 혈액검사와 요화학 검사상 비당뇨병성 만성 사구체 신염을 진단 받은 환자들을 대상으로 개방 전향적 (open prospective) 연구를 시행하였다. 대상 환자 중 혈청 크레아티닌이 3.0 mg/dL 미만, 일일 요단백 배설량이 1 gm 이상, 기존에 항고혈압 약물을 복용하고 있거나 연구 시작시 고혈압으로 진단된 44명을 대상으로 연구하였다. 대상 환자 중 당뇨병성 신증, 악성 고혈압, 중증 심혈관계 질환, 간질환, 신성 고혈압, 양측의 신혈관 협착증이 있거나 신장이 1개인 경우, 최근 6개월 이내에 면역억제제 사용자, ARB에 과민성 또는 불내성이 알려진 환자 등을 연구 대상에서 제외하였다. 정상 대조군으로는 신장이식 공여자를 포함한 건강한 자원자 22명을 검사하였다. 모든 환자들은 임상 시험 전 본 약제의 약리작용 및 부작용에 대해 충분한 설명을 듣고 서면동의 후에 임상 시험에 참가하였다.

2. 방법

1) 연구 방법

본 연구에 동의한 44명을 대상으로 24주 동안 전향적 연구를 시행하였다. 연구의 시작 시점을 0주로 정하고 0주에서 12주까지는 losartan 50 mg을 투여하였고, 12주 이후부터는 losartan 100 mg으로 증량하여 24주까지 추적 관찰하였다. 기존의 항고혈압 약제로 칼슘 길항제, ACE 억제제, 또는 ARB 투여 받은 병력이 있는 경우에는 4주 동안 상기 약제의 투여를 금지하였고 (휴지기), 고혈압을 처음 진단 받거나 항고혈압제를 복용하지 않은 환자는 휴지기 없이 약물치료를 시작하였다. 치료기간 동안 단백뇨 배설에 영향을 미치지 않는 α -차단제나 β -차단제 및 이뇨제 등으로 구성된 항고혈압 약제를 병용하여 목표 혈압을 125/75 mmHg 미만으로 유지하였다. 전체 환자에서 임상 시험기간 동안 losartan 이외의 다른 ARB나

ACE 억제제 및 칼슘 길항제 사용은 금지하였다. Losartan 투여 24주 후 30% 이상의 단백뇨 감소 효과를 나타낸 경우를 반응군으로 설정하고, 반응군과 비반응군 사이의 임상 및 검사실 소견에 차이가 있는지 비교 분석하였다.

2) 혈액 및 소변검사

모든 환자는 약물 투약 0주, 12주, 그리고 24주에 일반 혈액검사, 일반 화학검사, 24시간 소변 검사와 무작위 단백뇨 검사를 시행하였다. 단백뇨 측정은 무작위 단백뇨 검사에서의 요증 단백질과 크레아티닌의 비 그리고 24시간 소변 검사에서 측정된 단백뇨 배설량을 이용하여 검사하였다. 요증 TGF- β 1 측정은 24시간 소변 중 50 mL을 채취하여 1,500 r.p.m으로 10분간 원심분리하여 그 상층액을 -20°C에 저장한 후 샌드위치 enzyme-linked immunosorbent assay 방법을 이용하는 Quantikine (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) kit를 사용하여 측정하였다. 요증 TGF- β 1은 시료를 산성 (1.0 N HCl) 처리 후 중성화 (1.2 N NaOH/0.5 mol/L HEPES) 시켜 총 TGF- β 1을 측정하였다. 요증 TGF- β 1 농도는 소변 농도에 대한 변화를 보정하기 위해 요증 크레아티닌 농도로 보정하였다. 혈중 TGF- β 1도 산성 (2.5 N HCl) 처리 후 중성화 (2.7 N NaOH/1 M HEPES) 시켜 총 TGF- β 1을 측정하였다.

3. 통계적 방법

모든 자료의 통계분석은 통계 프로그램 SPSS package version 10.0을 이용하였고, 결과의 측정치는 평균±표준편차로 표기하였다. 한편, 정규분포하지 않는 단백뇨와 요증 및 혈청 TGF- β 1 농도는 logarithmic transformation하여 통계처리 하였고, 기하평균 (geometric mean)과 95% 신뢰구간 (confidence interval, CI)으로 표기하였다. 치료군내 임상적 지표간의 비교는 paired Student t-test와 Wilcoxon signed-rank test로 분석하였고, 반응군과 비반응군간의 임상적 지표를 비교하고 지표들의 임상적 의의를 검증하기 위해 Mann-Whitney U test와 logistic regression을 각각 시행하였다. 각 변수간의 상관은 Spearman의 상관분석을 이용하여 검정하였고, 각각의 유의성 검정은 p값이 0.05 미만인 경우 통계학적으로 유의한 것으로 하였다.

결 과

1. 대상 환자의 임상적 특성

임상시험에 참가한 44명의 환자 중 중도 탈락하여 분석이 불가능한 환자가 2명 있었으며, 최종 분석 가능한 42명은 남자가 15명, 여자 27명이었고, 평균 나이는 47±11세이었다. Losartan 치료 반응군 (n=31)이 비반응군 (n=11)에 비해 기저 단백뇨 배설 정도와 평균 연령이 적었으나, 그 외 남녀비, 평균 체중, 수축기 혈압, 확장기 혈압, 그리고 평균 동맥압은 비슷하였다. 반응군과 비반응군 모두 정상 대조군에 비해 요단백 배설이 유의하게 증가되어 있었고, 양군 모두 정상 대조군에 비해 크레아티닌 청소율이 감소되어 있었다. 요증 크레아티닌으로 보정된 요증 TGF- β 1 분비량은 만성 사구체 신염 환자군 기하평균이 28.1 (22.9-34.6) pg/mg creatinine으로 개인의 수치가 모두 정상 대조군의 2.3 (1.9-3.4) pg/mg creatinine 수치 보다 높았다. 혈청 TGF- β 1은 만성 신질환 환자군과 정상 대조군 사이에 유의한 차이를 보이지 않았다 (Table 1). 반응군과 비반응군 모두 losartan 치료 전후 혈액생화학적 지표의 의미 있는 변화를 보이지 않았고, 신기능을 나타내는 혈청 크레아티닌 청소율도 유의한 변화를 보이지 않았다 (Table 2, 3).

2. 안지오텐신 수용체 차단제의 혈압 조절 효과

모든 환자에서 12주간의 losartan 50 mg 치료 후 기저 혈압에 비해 유의한 수축기, 이완기 혈압 및 평균 동맥압의 하강 효과가 관찰되었고 ($p<0.05$), 대부분의 환자에서 목표 혈압 이하로 조절되었다. 한편 12주간의 losartan 50 mg 치료 후 100 mg으로 증량하여 24주까지 치료하였을 때 추가적인 혈압 하강 효과는 관찰되지 않았다 (Fig. 1). 반응군과 비반응군간의 혈압조절 정도는 유사하였고, 복용하는 혈압약제 종류나 숫자 및 이뇨제 사용 정도에 있어서 양 치료군 간에 유의한 차이가 없었다 (Table 1).

3. 안지오텐신 수용체 차단제 투여에 따른 단백뇨 감소 효과

만성 사구체 신염 환자들의 24시간 소변검사상 요단백 배설은 치료 전 2,055 mg/day (1,724-2,451 mg/day)에서 12주 치료 후 1,194 mg/day (905-

Table 1. Baseline Patient Characteristics

	Control (n=22)	Responders (n=31)	Non-responders (n=11)
Male/Female	16/6	12/19	3/8
Age (years)	28.2±8.9	44.7±11.7*	53.8±5.9*, †
Weight (kg)	65.1±9.8	62.4±12.2	62.3±10.5
SBP (mmHg)	120±11	138±16*	144±14*
DBP (mmHg)	76±9	89±8*	88±11*
MAP (mmHg)	91±10	105±11*	107±9*
Antihypertensives			
Washout period	—	α-blockers (2), diuretics (12)	α-blockers (2), diuretics (4)
Active period	—	β-blockers (1), α-blockers (2), diuretics (15)	β-blockers (1), α-blockers (2), diuretics (4)
Primary glomerular disease	—	IgAN (13), MPGN (1), CGN (17)	IgAN (1), MGN (2), FSGS (1), CGN (7)
Urine protein* (mg/day)	50 (20-100)	1,821 (1,540-2,153)*	2,880 (1,790-4,662)*, †
Creatinine clearance (mL/min/1.73 m ²)	111±27	62±26*	58±19*
Urine TGF-β1† (pg/mg creatinine)	2.3 (1.9-3.4)	23.8 (19.0-29.7)*	45.1 (29.2-68.1)*, †
Serum TGF-β1† (ng/mL)	30.2 (28.2-34.3)	31.7 (27.7-35.8)	34.5 (25.2-47.9)

Data are mean±SD or *geometric mean (95% CI)

SBP: systolic blood pressure, DBP: diastolic blood pressure, MAP: mean arterial blood pressure, IgAN: IgA nephropathy, MPGN: membranoproliferative glomerulonephritis, MGN: membranous nephropathy, CGN: chronic glomerulonephritis, FSGS: focal segmental glomerulosclerosis
*p<0.05 vs. control, †p<0.05 vs. responders

Table 2. Changes in Biochemical Profiles Following Treatment

	Responders			Non-responders		
	Baseline	12 week	24 week	Baseline	12 week	24 week
Hct (%)	38.5±5.5	38.1±5.3	37.1±4.9	37.5±3.5	37.9±5.3	37.0±4.0
Serum Na (mEq/L)	140±2	140±2	139±2	141±2	142±2	140±3
Serum K (mEq/L)	4.2±0.4	4.3±0.7	4.2±0.5	4.4±0.5	4.5±0.3	4.4±0.8
Total protein (g/dL)	6.8±0.5	7.0±0.5	6.8±0.5	6.8±0.7	6.7±0.6	6.7±0.8
Albumin (g/dL)	3.9±0.4	4.0±0.4	4.0±0.4	3.9±0.5	3.8±0.4	3.7±0.4
Creatinine (mg/dL)	1.5±0.6	1.5±0.7	1.6±0.7	1.6±0.6	1.6±0.6	1.6±0.5
Serum TGF-β1* (ng/mL)	31.7 (27.7-35.8)	31.9 (28.3-35.6)	33.1 (29.5-36.8)	34.5 (25.2-47.9)	35.1 (27.4-42.8)	35.1 (27.1-43.3)

Data are mean±SD or *geometric mean (95% CI)

1,577 mg/day)로 유의하게 감소하였고 (치료 전보다 평균 33.4% 감소, p<0.01), 24주 치료 후에는 872 mg/day (643-1,184 mg/day)로 유의하게 감소하였다 (치료 전보다 평균 46.6% 감소, p<0.01). 무작위 단백뇨 검사상의 요증 단백질과 크레아티닌의 비율도 약물 치료 전후로 유의한 감소가 관찰되었다. 단백질 섭취량의 지표인 normalized protein nitrogen appearance (nPNA)는 치료기간 동안 유의한 변화가 없었다

(Table 3). 반응군의 단백뇨 배설 정도는 치료 전 1,822 mg/day (1,541-2,153 mg/day)에서 12주 치료 후 883 mg/day (665-1,172 mg/day)로 유의하게 감소하였고 (치료 전보다 평균 46.0% 감소, p<0.01), 24주 치료 후에는 577 mg/day (450-740 mg/day)로 더욱 감소하였다 (치료 전보다 평균 64.1% 감소, p<0.01). 한편 비반응군에서는 치료 12주와 24주 전후로 각각 유의한 단백뇨 감소 효과가 관찰되지 않았다.

Table 3. Changes in Urine Parameters Following Treatment

	Responders			Non-responders		
	Baseline	12 week	24 week	Baseline	12 week	24 week
U _{Na} (mEq/day)	188±81	187±51	184±57	184±48	196±58	196±56
U _K (mEq/day)	62±23	56±22	60±24	66±28	60±14	60±32
U _{Pro} (gm/day) [*]	1.8 (1.5-2.3)	0.9* (0.7-1.2)	0.6* (0.4-0.7)	2.8 [†] (1.8-4.6)	2.8 [†] (1.8-4.2)	2.8 [†] (1.7-4.6)
U _{Pro/Cr} ratio	2.0±1.0	1.1±0.8*	0.7±0.4*	4.0±2.9	3.8±2.0	3.7±1.8
CCl (mL/min/1.73 m ²)	62±26	61±28	62±27	58±19	59±34	58±18
nPNA	1.3±0.3	1.2±0.3	1.2±0.3	1.2±0.2	1.3±0.3	1.2±0.3

Data are mean±SD or *geometric mean (95% CI)

U_{Na}: urinary sodium excretion, U_K: urinary potassium excretion, U_{Pro}: urinary protein excretion, U_{Pro/Cr} ratio: random urine protein creatinine ratio, CCl: creatinine clearance, nPNA: normalized protein nitrogen appearance

*p<0.05 vs. baseline, [†]p<0.05 vs. Responders

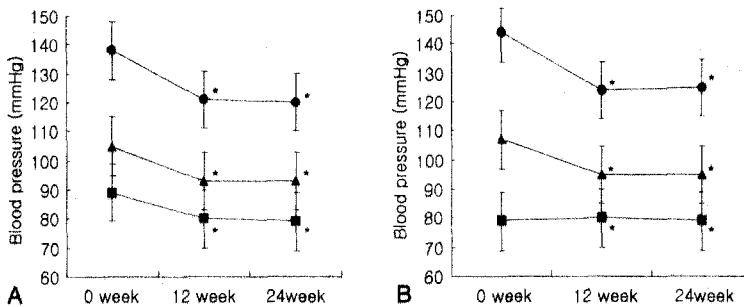


Fig. 1. Blood pressure responses to losartan in responders (A) and non-responders (B). ●: systolic blood pressure, ▲: mean arterial blood pressure, ■: diastolic blood pressure. *p < 0.05 vs. 0 week.

4. 안지오텐신 수용체 차단제의 요증 및 혈청 TGF- β 1 분비에 대한 효과

만성 사구체 신염 환자군의 기저 요증 TGF- β 1 농도는 모두 건강한 대조군에 비해 유의하게 높았고, 비반응군이 반응군보다 기저 요증 TGF- β 1 농도가 높았다 (Table 1, p<0.05). 한편 반응군과 비반응군의 요증 TGF- β 1 농도는 ARB 치료 12주 후 각각 14.9 (11.2-20.0)와 29.7 (19.0-46.3) pg/mg creatinine으로 양군 모두 치료 전보다 유의하게 감소하였다 (p<0.05). ARB 치료 24주 후에는 요증 TGF- β 1 농도가 각각 11.1 (8.1-15.2)과 34.8 (23.5-45.4) pg/mg creatinine으로 반응군에서만 요증 TGF- β 1 분비량이 더욱 감소하였고, 비반응군에서는 추가적인 감소가 관찰되지 않았다 (Fig. 2). 혈청 TGF- β 1 농도는 ARB 치료 전후로 유의한 변화가 관찰되지 않았다 (Table 2).

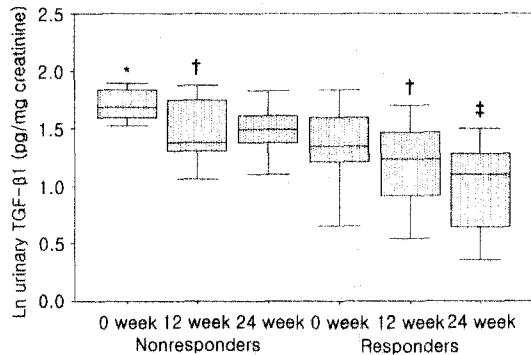


Fig. 2. Changes in urinary TGF- β 1 excretion at baseline and after treatment with losartan in responders and non-responders. *p<0.05 vs. responders, [†]p<0.05 vs. 0 week, [‡]p<0.01 vs. 12 week.

Table 4. Logistic Regression Analysis of Antiproteinuric Responses to Losartan

	p value	Exp (B)	95% CI
Age	0.103	0.820	0.646-1.041
Baseline urine TGF- β 1	0.035	0.842	0.717-0.988
Percent reduction in urine TGF- β 1	0.052	1.095	0.998-1.202
Baseline urine protein	0.487	1.000	0.999-1.000

5. 요증 TGF- β 1 농도의 임상적 의의

비당뇨병성 만성 사구체 신염 환자에서 기저 요증 TGF- β 1 분비 정도와 단백뇨 배설 정도 ($r=0.128$, $p>0.1$) 및 크레아티닌 청소율 ($r=0.095$, $p>0.1$) 사이에는 유의한 상관관계가 없었다. 그러나 losartan 치료에 따른 요증 TGF- β 1 분비 감소비율 (0주 요증 TGF- β 1 - 24주 요증 TGF- β 1/0주 요증 TGF- β 1 $\times 100\%$)과 단백뇨량 감소 비율 사이에는 밀접한 양의 상관관계가 관찰되었다 ($r=0.301$, $p=0.052$). Losartan 치료에 따른 요단백 감소 반응군과 비반응군의 임상적 지표 및 검사실 소견들을 상호 비교하였을 때 평균 연령, 기저 24시간 단백뇨 배설 정도, 기저 요증 TGF- β 1 농도 및 0주와 24주 사이의 요증 TGF- β 1 감소 비율 (0주 요증 TGF- β 1 - 24주 요증 TGF- β 1/0주 요증 TGF- β 1 $\times 100\%$)이 유의한 차이를 보였다. 한편 단백뇨가 동반된 만성 사구체 신염 환자에서 ARB 투여에 따른 단백뇨 감소 반응군을 결정하는 독립적인 변수를 찾기 위해 시행한 임상적 지표들의 로지스틱 분석상 기저 요증 TGF- β 1 농도가 유일하게 losartan 치료에 따른 유의한 단백뇨 감소 반응 효과를 예측하게 하는 변수였다. 한편 반응군과 비반응군 사이에 유의한 차이를 보였던 기저 24시간 단백뇨 배설 정도나 단백뇨 감소 및 요증 TGF- β 1 감소 비율은 losartan 치료에 따른 단백뇨 감소 반응군 결정에 유효한 변수가 아니었다 (Table 4).

고 찰

본 연구는 단백뇨와 고혈압이 동반된 비당뇨병성 만성 사구체 신염 환자에서 혈청 및 요증 TGF- β 1 분비를 관찰하고, ARB 치료가 요단백과 TGF- β 1 분비에 미치는 영향과 요증 TGF- β 1의 임상적 의의를 관찰하고자 하였다. 단백뇨가 동반된 만성 신질환에서 ACE 억제제나 ARB 치료에 따른 단백뇨 감소

효과는 보고자에 따라 다르지만 대략 30-50% 정도인 것으로 알려져 있다^{18, 20}. 본 연구에서 losartan 치료에 따른 단백뇨 감소 효과는 평균 46%로 다른 연구 결과와 비슷하였다. 한편, 투약 기간이 6개월로 짧은 점과 기존에 발표된 문헌을 참고하여 losartan 치료에 따른 단백뇨 감소가 치료 전보다 30% 이상인 경우를 반응군 그리고 단백뇨 감소가 30% 미만인 경우를 비반응군으로 정의하였다¹⁸. 본 연구에서 단백뇨 감소 반응군은 전체 환자의 약 74%를 차지하였고, 이와 같은 단백뇨 감소 반응률은 기존의 연구 결과 보다 양호하였다^{18, 19}.

단백뇨는 만성 신질환의 진행에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며, 최근에 단백뇨에 의한 신섬유화 발생 기전이 일부 규명되었다²¹. 즉, 단백뇨에 의한 신장내 안지오텐신 II 합성 증가가 다양한 화학주성인자, 성장인자, 그리고 싸이토카인 발현을 증가시키고 사구체경화증과 간질의 섬유화를 촉진시킨다. TGF- β 1은 사구체 손상 기전과 관련된 대표적인 싸이토카인으로 세포외기질의 합성을 증가시키고 분해를 억제하여 사구체경화증과 간질의 섬유화를 촉진하는데 중추적인 역할을 한다¹⁻⁵.

요증 TGF- β 1은 기존의 동물실험과 임상연구에서 신장내 TGF- β 1 생성을 간접적으로 측정할 수 있는 방법으로 보고되어 있다⁸⁻¹². Zoja 등의 연구에 의하면 I^{125} -labeled TGF- β 1을 동물에 주사한 후에 소변에서 그 양을 측정하였을 때 매우 소량만이 측정되었다. 따라서 요증 TGF- β 1은 전신순환계의 TGF- β 1이 사구체 여과를 통해 소변으로 분비된 결과라기보다는 신장내에서 생성된 TGF- β 1을 반영한다고 하였다¹⁵. 본 연구 결과, 비당뇨병성 만성 사구체 신염 환자들의 요증 TGF- β 1 분비량은 정상 대조군에 비해 약 20배 정도 증가되어 있었다. 이와 같은 결과는 정상 대조군에 비해 막성 신증²², 초점성 국소성 경화증²³, 당뇨병성 신증⁹, 그리고 IgA 신증²²에서 요증 TGF- β 1 분비가 크게 증가되어 있다는 다른 연구

결과들과 일치한다.

ARB 치료는 단백뇨와 고혈압이 동반된 IgA 신증 환자에서 단백뇨와 요증 TGF- β 1 분비를 유의하게 감소시켰다¹⁷⁾. 또한 기존에 ACE 억제제 치료를 받고 있던 단백뇨가 동반된 당뇨병성 및 비당뇨병성 신염 환자에서 ACE 억제제 치료에 추가된 losartan은 추가적인 요증 TGF- β 1 분비 감소를 유발하였다²⁴⁾. 그러나 이들 연구에서 사용된 losartan 투약 용량은 최대 용량 보다 적은 50 mg으로 제한되어 있었고^{17, 24)}, 투약 기간도 3개월 미만이어서 최대한의 안지오텐신 II 억제 효과를 보기에는 다소 미흡하였다고 생각할 수 있다²⁴⁾. 이에 따라 본 연구에서는 12주간의 losartan 50 mg 투약 후 losartan 투여 요량을 100 mg 으로 증량하여 12주간 추가 투약하였다. 본 연구 결과에서도 losartan 치료는 요단백 배설과 요증 TGF- β 1 분비를 유의하게 감소시켰다. 뿐만 아니라 약물 치료 전후로 측정한 크레아티닌 청소율은 차이가 없어 신기능 저하에 따른 요증 TGF- β 1 배설 감소보다는 ARB 약물 효과에 의한 요증 TGF- β 1 분비 감소로 사료되었다. 특히, 반응군에서 losartan 용량을 100 mg으로 증량하여 12주간 치료하였을 때 혈압 강하 작용 없이 추가적인 단백뇨와 요증 TGF- β 1 분비 감소가 관찰되었다. 비당뇨병성 만성 사구체 신염 환자를 대상으로 고용량과 저용량의 losartan 사용에 따른 단백뇨와 요증 TGF- β 1 분비에 미치는 결과는 아직까지 거의 알려져 있지 않다. 본 연구의 결과는 비당뇨병성 만성 사구체 신염 환자에서 용량 의존적이지는 않지만 고용량의 ARB 사용이 저용량에 비해 우수한 단백뇨 감소 효과와 함께 추가적인 요증 TGF- β 1 분비 감소 효과를 유발할 수 있음을 암시하고 있다. 따라서 ARB 치료시 유의한 단백뇨 감소 효과를 나타내는 반응군에서는 고용량의 ARB 사용이 저용량 투여 보다 병태생리학적으로 도움이 되는 치료일 것으로 사료된다.

비당뇨병성 만성 사구체 신염 환자들의 혈청 TGF- β 1 농도는 대조군과 유의한 차이를 보이지 않았고, 요증 TGF- β 1 농도와는 달리 ARB 치료에 따른 변화를 보이지 않았다. 이러한 결과는 혈청 TGF- β 1 농도가 혈소판 또는 다른 세포에서 유래하는 TGF- β 1 농도를 반영할 뿐만 아니라²⁵⁾, 약물 치료 기간이 6개월로 짧았던 점들이 작용하였을 것으로 사료된다.

다량의 단백뇨가 동반되었던 환자들을 대상으로 시

행한 연구에서는 단백뇨 배설 정도와 요증 TGF- β 1 분비 사이에 유의한 상관관계가 관찰되었고, 면역억제제 치료에 따른 단백뇨의 관계는 요증 TGF- β 1 분비 감소와 일치하였다^{22, 24, 26)}. 그러나 본 연구를 비롯한 일일 단백뇨 배설 정도가 평균 3 gm 미만인 환자들을 대상으로 시행한 연구에서는 기저 단백뇨 배설 정도와 요증 TGF- β 1 분비 간에 유의한 상관관계를 확인할 수 없었다¹²⁾. 한편 단백뇨가 동반된 만성 신질환에서 ARB 치료에 따른 단백뇨 배설 감소 정도와 요증 TGF- β 1 분비 변화를 간에는 연구자마다 상이한 상관관계를 보고하고 있다^{17, 27)}. 본 연구에서는 단백뇨 감소 정도와 요증 TGF- β 1 분비 감소 정도 간에는 통계적으로 유의하지 않지만 양의 상관관계가 관찰되었다. 뿐만 아니라 단백뇨가 동반되지 않은 만성 동종이식 신부전증에서도 요증 TGF- β 1 분비의 증가가 관찰되어²²⁾, 만성 사구체 신염 환자들에서 관찰되는 요증 TGF- β 1 분비 증가가 단순한 사구체의 단백질 여과 증가로 생기는 현상이 아니고 다양한 세포인자나 물리적 자극에 의한 신장내 TGF- β 1 생성 증가를 반영한다고 생각된다.

단백뇨 억제에 유효한 것으로 알려진 12주간의 일일 losartan 100 mg 치료에도 불구하고 본 연구에서 신장내 TGF- β 1 발현이 완전 차단되어 요증 TGF- β 1 농도가 정상 기준 이하로 감소되는 경우는 관찰되지 않았다²⁸⁾. 이와 같은 불충분한 요증 TGF- β 1 분비 억제 작용도 단백뇨에 의한 안지오텐신 II 자극 이외의 다른 기전에 의한 TGF- β 1 분비를 시사한다. 즉, 단백뇨에 의한 세뇨관 세포 자극 외에 혈관간세포에 대한 물리적 압력, 혈관간세포와 사구체내 염증세포에서 분비되는 세포인자 등의 다양한 기전에 의해 사구체내 TGF- β 1 분비가 증가하여 ARB 단독으로는 요증 TGF- β 1 분비를 완전히 억제할 수 없었던 것으로 사료된다.

사구체내 압력 증가는 혈관간세포의 TGF- β 1 분비를 자극하고²⁹⁾, 고혈압과 신질환에 동반된 동물모델은 대조군에 비해 사구체 조직 내 TGF- β 1 발현 증가가 현저하였다³⁰⁾. Agarwal 등의 임상연구에서도 수축기 혈압과 요증 TGF- β 1 분비간의 유의한 상관관계가 관찰되어 사구체내 압력 증가에 따른 신장내 TGF- β 1 분비 증가 가능성을 암시하였다²⁴⁾. 본 연구에서 첫 12주간의 losartan 50 mg 치료는 반응군과 비반응군 모두에서 유의한 혈압 강하를 유발하였고,

양군에서의 혈압 강하 정도는 유사하였다. 본 연구 결과에서 기저 혈압과 요증 TGF- β 1 농도 또는 혈압 변동 정도와 요증 TGF- β 1 분비 간에 유의한 상관관계를 확인할 수 없었다. 그러나 비반응군에서 첫 12 주간의 losartan 치료는 단백뇨 감소 여부와 관계없이 요증 TGF- β 1 분비를 감소시켰다. 즉, 단백뇨 변화와 관계없이 혈압 강하만 관찰된 비반응군에서의 요증 TGF- β 1 분비 감소는 ARB 치료로 인한 전신 혈압 강하와 이차적인 사구체내 압력 감소에 따른 요증 TGF- β 1 분비 억제 작용을 추측하게 한다.

안지오텐신 II 억제제에 대한 반응은 염분과 단백질 섭취 정도 또는 개개인의 신질환 진행정도에 따라 영향을 받을 수 있다³¹⁾. 본 연구에서 환자군에 대한 식이섭취 제한은 없었으며, 양군 모두 염분이나 단백질 섭취 정도가 비슷하였다. 그러나 비반응군은 반응군에 비해 연령이 많고 기저 단백뇨 및 요증 TGF- β 1 농도가 현저히 증가되어 있었다. 환자군의 신질환의 진행 정도에 대한 조직학적 자료가 없으나 요증 TGF- β 1가 신장내 염증 상태를 암시하는 싸이토카인이고, 단백뇨가 많을수록 신손상이 증가할 수 있음을 고려할 때 비반응군이 보다 더 진행된 신질환을 가지고 있어 ARB 치료에 저항성을 보였던 것으로 사료된다^{13, 24)}.

한편, 기저 요증 TGF- β 1 농도는 만성 사구체 신염 환자에서 ARB 치료시 유의한 단백뇨 감소 반응을 예측할 수 있는 임상지표라는 점이 관찰되었다. Ramipril Efficacy in Nephropathy Trial 연구에서 발표된 연구결과를 보면, ACE 억제제 치료에 따른 단백뇨 감소 정도는 일일 단백뇨가 1-3 g 정도인 환자군에서 13%이었고³²⁾, 일일 단백뇨가 3 g 이상인 환자군에서는 23-55% 정도로 발표되어 기저 단백뇨 배설이 많은 환자군에서 ACE 억제제 치료에 따른 단백뇨 감소 정도가 더 크게 관찰되었다³³⁾. Jafar 등도 비당뇨병성 만성 신질환 환자에서 ACE 억제제 치료에 따른 단백뇨 감소 정도는 기저 단백뇨 배설이 많은 환자군에서 더 크게 감소되었고 신기능 보호 효과도 증가되었다고 보고하였다³⁴⁾. 그러나 다른 연구에서는 기저 단백뇨 배설 정도가 클수록 ACE 억제제 치료에 따른 단백뇨 감소 효과가 적었다고 보고하기도 하였다³⁵⁾. 본 연구에서는 단백뇨 감소 반응군에 비해 비반응군의 기저 단백뇨 배설 정도가 유의하게 증가되어 있었고, logistic regression analysis 상 기저 단백뇨

배설 정도나 단백뇨 감소 비율은 ARB 투여에 따른 단백뇨 감소 반응 정도를 예측하지 못했다. 오히려 기저 요증 TGF- β 1 농도 ($p=0.035$)가 ARB 질환제 치료에 따른 단백뇨 감소 반응군을 예측하는데 유용한 지표로 나타났다. 다양한 요증 TGF- β 1 분비 기전의 규명과 단백뇨 간의 상관관계 그리고 질환별 임상적 의의를 알아보기 위해서는 보다 더 많은 환자들과 다양한 신장질환들을 대상으로 전향적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

결론적으로 단백뇨가 동반된 비당뇨병성 만성 사구체 신염 환자에서 losartan은 단백뇨를 감소시키고 요증 TGF- β 1 분비를 억제하였다. 또한 본 연구에서 요증 TGF- β 1 농도는 ARB 치료에 따른 요단백 감소 반응을 예측할 수 있는 지표임을 관찰하였고, 추후 보다 많은 환자를 대상으로 장기적인 연구와 평가가 필요할 것으로 사료된다.

= Abstract =

Effect of Losartan Treatment on Proteinuria and Urinary Transforming Growth Factor- β 1 in Human Chronic Glomerulonephritis

Hyeong Cheon Park, M.D.

Beom Seok Kim, M.D., Hoon Young Choi, M.D.

Shin Wook Kang, M.D., Kyu Hun Choi, M.D.

Sung Kyu Ha, M.D., Ho Yung Lee, M.D.
and Dae Suk Han, M.D.

Department of Internal Medicine, College of Medicine, Institute of Kidney Disease,
Yonsei University, Seoul, Korea

Background : Urinary TGF- β 1 reflects intrarenal TGF- β 1 production and is increased in patients with progressive nephropathies. We studied the effects of angiotensin receptor blocker (ARB) on serum and urinary TGF- β 1 excretion in chronic glomerulonephritis patients with proteinuria. Also the role of urinary TGF- β 1 in ARB induced antiproteinuric responses was evaluated.

Methods : Patients with non-diabetic chronic renal disease with proteinuria of 1 g or more were enrolled in this open, prospective study. After four weeks of washout period, the patients received losartan 50 mg daily followed by 100 mg in two treatment periods each lasting 12 weeks. Clinical parameters and urinary indices including proteinuria and urinary TGF- β 1 were measured at baseline and

after each 12 week treatment period.

Results : Among the 42 patients who completed the study, 31 responded to ARB therapy determined as a decrease in proteinuria by 30% (responders), and 11 did not respond (non-responders). ARB treatment controlled blood pressure to a similar degree in both responders and non-responders. Renal function and other biochemical parameters did not change during the study period. Both doses of losartan significantly lowered proteinuria and urinary TGF- β 1 excretion in responders (50 mg : 33.4% and 29.0%, 100 mg : 64.1% and 45.8%, respectively, $p<0.05$). In contrast, non-responders showed no significant reduction in proteinuria and no further decrease in urinary TGF- β 1 after 100 mg treatment. Urinary TGF- β 1 excretion lacked any correlation between clinical parameters such as proteinuria or renal function. Responders were younger, showed lower baseline proteinuria and urinary TGF- β 1 excretion and greater reduction in urinary TGF- β 1 excretion after ARB treatment. However, lower baseline urinary TGF- β 1 excretion was the only significant predictor of response to ARB therapy.

Conclusion : Our data suggest that ARB therapy in nondiabetic proteinuric chronic glomerulonephritis patients reduces proteinuria and urinary TGF- β 1 excretion and baseline urinary TGF- β 1 excretion may predict antiproteinuric response to ARB therapy.

(Korean J Nephrol 2004;23(2):231-240)

Key Words : Proteinuria, Urinary TGF- β 1, Losartan

참 고 문 헌

- 1) Border WA, Noble NA : Transforming growth factor- β 1 in tissue fibrosis. *N Engl J Med* **331**:1286-1292, 1994
- 2) Eddy AA : Molecular insights into renal interstitial fibrosis. *J Am Soc Nephrol* **7**:2495-2508, 1996
- 3) Yamamoto T, Noble NA, Miller DE, Border WA : Sustained expression of TGF- β 1 underlies development of progressive kidney fibrosis. *Kidney Int* **45**:916-927, 1994
- 4) Yamamoto T, Nakamura T, Noble NA, Rouslahti E, Border WA : Expression of TGF- β in human and experimental diabetic nephropathy. *Proc Natl Acad USA* **90**:1814-1818, 1993
- 5) Yamamoto T, Noble NA, Cohen AH, Nast CC, Hishida A, Gold LI, Border WA : Expression of TGF- β isoforms in human glomerular diseases. *Kidney Int* **49**:461-469, 1996
- 6) Bodai I, Kimmel PL, Abraham AA, Svetkey LP, Klotman PE, Kopp JB : Renal TGF- β in HIV-associated kidney diseases. *Kidney Int* **51**:1568-1577, 1997
- 7) Niemir ZI, Stein H, Noronha IL, Kruger C, Andressy K, Ritz E, Waldherr R : PDGF and TGF- β contribute to the natural course of human IgA glomerulonephritis. *Kidney Int* **48**:1530-1541, 1995
- 8) Noh JW, Wiggins R, Phan SH : Urine transforming growth factor- β 1 activity is related to the degree of scarring in crescentic nephritis in the rabbit. *Nephron* **63**:73-78, 1993
- 9) Ellis D, Forrest KY, Erbey J, Orchard TJ : Urinary measurement of transforming growth factor- β 1 and type IV collagen as new markers of renal injury : application in diabetic nephropathy. *Clinical Chemistry* **44**:950-956, 1998
- 10) Monteiro de Freitas AS, Coimbra TM, Costa RS, Baroni EA : Urinary transforming growth factor- β (TGF- β) excretion and renal production of TGF- β in rats with subtotal renal ablation : effect of enalapril and nifedipine. *Nephron* **78**:302-309, 1998
- 11) Takazoe K, Utsunomiya Y, Kawamura T, Sakai O, Hosoya T : Urinary transforming growth factor- β 1 is an indicator of histological chronicity in IgA nephropathy. *Nephrology* **5**:231-236, 2000
- 12) Haramaki R, Tamaki K, Fujisawa M, Ikeda H, Haramaki N, Okuda S : Steroid therapy and urinary transforming growth factor- β 1 in IgA nephropathy. *Am J Kidney Dis* **38**:1191-1198, 2001
- 13) Taal MW, Brenner BM : Renoprotective benefits of RAS inhibition : From ACEI to angiotensin II antagonists. *Kidney Int* **57**:1803-1817, 2000
- 14) Shin GT, Kim SJ, Ma KA, Kim HS, Kim D : ACE inhibitors attenuate expression of renal transforming growth factor- β 1 in humans. *Am J Kidney Dis* **36**:894-902, 2000
- 15) Zoja C, Abbate M, Corna D, Capitanio M, Donadelli R, Bruzzi I, Oldroyd S, Benigni A, Remuzzi G : Pharmacologic control of angiotensin II ameliorates renal disease while reducing renal TGF- β in experimental mesangiproliferative glomerulonephritis. *Am J Kidney Dis* **31**:453-463, 1998
- 16) 이승준, 한주영, 김희진, 이태원, 임천규 : IgA 신증에서의 요증 IL-6와 TGF- β 분비와 AIII 수용체 차단제의 효과. *대한신장학회지* **21**:407-413, 2002
- 17) Park HC, Xu ZG, Choi S, Goo YS, Kang SW, Choi KH, Ha SK, Lee HY, Han DS : Effect of losartan and amlodipine on proteinuria and trans-

- forming growth factor- β 1 in patients with IgA nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* **18**:1115-1121, 2003
- 18) Woo KT, Lau YK, Wong KS, Chiang GSC : ACEI/ATRA therapy decreases proteinuria by improving glomerular permselectivity in IgA nephritis. *Kidney Int* **58**:2485-2491, 2000
- 19) Perico N, Remuzzi A, Sangalli F, Azzollini N, Mister M, Ruggenenti P, Remuzzi G : The antiproteinuric effect of angiotensin antagonism in human IgA nephropathy is potentiated by indomethacin. *J Am Soc Nephrol* **9**:2308-2317, 1998
- 20) Lacourciere Y, Belanger A, Godin C, Halle JP, Ross S, Wright N, Marion J : Long-term comparison of losartan and enalapril on kidney function in hypertensive type 2 diabetics with early nephropathy. *Kidney Int* **58**:762-769, 2000
- 21) Leu JG, Huang CM, Kao SJ, Jiang WW : Efficacy and safety of losartan in patients with proteinuria. *Nephron* **91**:496-498, 2002
- 22) Honkanen E, Teppo AM, Tornroth T, Groop PH, Gronhagen-Riska C : Urinary transforming growth factor- β 1 in membranous glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* **12**:2562-2568, 1997
- 23) Kanai H, Mitsuhashi H, Ono K, Yano S, Naruse T : Increased excretion of urinary transforming growth factor β in patients with focal glomerulosclerosis. *Nephron* **66**:391-395, 1994
- 24) Agarwal R, Siva S, Dunn SR, Sharma K : Add-on angiotensin II receptor blockade lowers urinary transforming growth factor- β levels. *Am J Kidney Dis* **39**:486-492, 2002
- 25) Sharma K, Eltayeb BO, McGowan TA, Dunn SR, Alzahabi B, Rohde R, Ziyadeh FN, Lewis EJ : Captopril induced reduction of serum levels of transforming growth factor- β 1 correlates with long-term renoprotection in insulin dependent diabetic patients. *Am J Kidney Dis* **34**:818-823, 1999
- 26) Goumenos DS, Tsakas S, El Nahas AM, Alexandri S, Oldroyd S, Kaliakmanis P, Vlachojannis JG : Transforming growth factor- β 1 in the kidney and urine of patients with glomerular disease and proteinuria. *Nephrol Dial Transplant* **17**:2145-2152, 2002
- 27) Praga M, Andrade CF, Luno J, Arias M, Poveda R, Mora J, Prat MV, Rivera F, Galceran JM, Ara JM, Aguirre R, Bernis C, Marin R, Campistol JM : Antiproteinuric efficacy of losartan in comparison with amlodipine in non-diabetic proteinuric renal diseases : a double-blind, randomized clinical trial. *Nephrol Dial Transplant* **18**:1806-1813, 2003
- 28) Laverman GD, Henning RH, de Jong PE, Navis G, de Zeeuw D : Optimal antiproteinuric dose of losartan in nondiabetic patients with nephrotic range proteinuria. *Am J Kidney Dis* **38**:1381-1384, 2001
- 29) Yasuda T, Kondo S, Homma T, Harris RC : Regulation of extracellular matrix by mechanical stress in rat glomerular mesangial cells. *J Clin Invest* **98**:1991-2000, 1996
- 30) Sharma K, Jin Y, Guo J, Ziyadeh FN : Neutralization of TGF- β by anti-TGF- β antibody attenuates kidney hypertrophy and the enhanced extracellular matrix gene expression in STZ-induced diabetic mice. *Diabetes* **45**:522-530, 1996
- 31) Kramer AB, Laverman GD, van Goor H, Navis G : Inter-individual differences in antiproteinuric response to ACEi in established adriamycin nephrotic rats are predicted by pretreatment renal damage. *J Pathol* **201**:160-167, 2003
- 32) Ruggenenti P, Perna A, Gherardi G, Garini G, Zoccali C, Salvadori M, Scolari F, Schena FP, Remuzzi G : Renoprotective properties of ACE-inhibition in non-diabetic nephropathies with non-nephrotic proteinuria. *Lancet* **354**:359-364, 1999
- 33) GISEN Group : Randomised placebo-controlled trial of effect of ramipril on decline in glomerular filtration rate and risk of terminal renal failure in proteinuric, non-diabetic nephropathy. The GISEN Group (Gruppo Italiano di Studi Epidemiologici in Nefrologia). *Lancet* **349**:1857-1863, 1997
- 34) Jafar TH, Stark PC, Schmid CH, Landa M, Masschio G, Marcantonio C, de Jong PE, de Zeeuw D, Shahinfar S, Ruggenenti P, Remuzzi G, Levey AS; AIPRD Study Group : Angiotensin-converting enzyme inhibition and progression of renal disease : Proteinuria as a modifiable risk factor for the progression of non-diabetic renal disease. *Kidney Int* **60**:1131-1140, 2001
- 35) Nosrati SM, Khwaja S, el-Shahawy M, Massry SG : Effect of angiotensin converting enzyme inhibition by perindopril on proteinuria of primary renal diseases. *Am J Nephrol* **17**:511-517, 1997